

**VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ
TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA**
Hornicko-geologická fakulta
Institut Environmentálního inženýrství

PŮDNÍ BAKTERIE

SOIL BACTERIA

bakalářská práce

Autor:
Vedoucí bakalářské práce:

Simeon Slávik
Ing. Nikolas Mucha, Ph.D.

Ostrava 2010

AUTORSKÉ PROHLÁŠENÍ

Celou bakalářskou práci, jsem vypracoval samostatně a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu.

- Byl jsem seznámen s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č.121/2000 Sb. - autorský zákon, zejména § 35 – využití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a využití díla školního a § 60 – školní dílo.

- Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB-TUO) má právo nevýdělečně, ke své vnitřní potřebě, bakalářskou práci užít (§ 35 odst. 3).

- Souhlasím s tím, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB-TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o bakalářské práci, obsažené v Záznamu o závěrečné práci, umístěném v příloze mé bakalářské práce, budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO.

- Bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.

- Bylo sjednáno, že užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

.....

V Ostravě dne 15. 4. 2010

Simeon Slávik

Místopřísežné prohlášení

Prohlašuji, že jsem celou bakalářskou práci vypracoval samostatně a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu

V Ostravě dne 15. 4. 2010

.....
Simeon Slávik

Zadání bakalářské práce

Student:

Simeon Slávik

Studijní program:

B2102 Nerostné suroviny

Studijní obor:

3904R028 Environmentální biotechnologie

Téma:

**Půdní bakterie
Soil Bacteria**

Zásady pro vypracování:

1. Úvod a cíl bakalářské práce
2. Půdní bakterie - základní charakteristika; vlastnosti; faktory, které je ovlivňují
3. Druhy půdních bakterií - charakteristika a vlastnosti
4. Využití půdních bakterií
5. Závěr a komentář k dané problematice

Seznam doporučené odborné literatury:

1. Kaprálek, F.: Základy bakteriologie. Praha: Karolinum, 1999. 242 s.
2. Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A.: Mikrobiology. New York: Mc Graw Hill, 2002, 1082 s.
3. Fečko, P.: Environmentální biotechnologie. Ostrava: VŠB-TU Ostrava, 2004. 180 s.
4. Byzov, B. A. et al.: Fate of soil bacteria and fungi in the gut of earthworms. European Journal of Soil Biology, 2007, vol. 43, No. 1, p. 149-156.
5. Chien, Ch. et al.: Microbial diversity of soil bacteria in agricultural field contaminated with heavy metals. Journal of Environmental Sciences, 2008, vol. 20, No. 3, p. 359-363.
6. Odborné časopisy, sborníky z konferencí.

Formální náležitosti a rozsah bakalářské práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Nikolas Mucha, Ph.D.**

Datum zadání: 31.10.2009

Datum odevzdání: 15.04.2010



prof. Ing. Vojtech Dirner, CSc.
vedoucí institutu

prof. Ing. Vladimír Slivka, CSc., Dr.h.c.
děkan fakulty

Nejprve bych chtěl poděkovat Ing. Nikolasi Muchovi, Ph.D. za umožnění tohoto tématu k psaní bakalářské práce, díky které jsem se obohatil o nové poznatky v mikrobiologii, dále bych chtěl poděkovat za volný čas, který mi byl věnován k opravám a odborným radám a hlavně při vedení mou bakalářskou prací.

Abstrakt

V předložené bakalářské práci se zabývám jak obecným popisem půdy, tak hlavním tématem a to je popis bakterií a její specifickou skupinou, která obsahuje půdní bakterie. Půdou se zabývám, z důvodu životně důležitého prostředí pro výskyt a vývoj bakterií. Nejvýznamnější druhy bakterií jsou zde rozděleny do dvou základních odvětví a to na aerobních půdní bakterií a anaerobní půdní bakterie, které jsou rozděleny a podrobněji popsány v této práci. V závěru práce jsou zmíněny způsoby využití půdních bakterií v praxi a to k odbourání radioaktivních a toxických látek z půdy. Zejména v oblastech zamořené lidskou činností. A jako poslední zmínkou jsou bakterie využité při kompostování.

Klíčová slova:

Půda, bakterie, půdní bakterie, aerobní bakterie, anaerobní bakterie

Summary

The submitted thesis deals with both the general description of the soil, so the main issue and it is a description of the bacteria and the specific group that contains soil bacteria. Land deals, because of the vital environment for the occurrence and development of bacteria. The most important species of bacteria are divided into two sectors and on the aerobic and anaerobic soil bacteria, which are classified and described in detail in this work. In conclusion there are mentioned methods use soil bacteria, in practice, and the elimination of radioactive and toxic substances from the soil. Especially in areas human activities. And the last mention of the bacteria used in composting.

Keywords:

Soil, Bacteria, Soil Bacteria, Aerobic Bakteria, Anaerobic Bacteria

OBSAH

1.	Úvod a cíl bakalářské práce	1
2.	Půda.....	3
2.1.	Definice půdy.....	3
2.2.	Funkce půdy	4
2.3.	Vznik půdy	5
2.4.	Složení půdy	6
2.5.	Složky půdy	6
2.6.	Vlastnosti půdy	7
2.7.	Humifikace	8
3.	Bakterie	9
3.1.	Charakteristika bakterií	9
3.2.	Morfologie bakterií	9
3.3.	Stavba buněk bakterií	11
3.4.	Rozdělení podle fyziologických vlastností	15
4.	Druhy půdních bakterií.....	20
4.1.	Rody aerobních bakterií	21
4.1.1.	Rod <i>Rhizobium</i>	21
4.1.2.	Rod <i>Arthobacter</i>	23
4.1.3.	Rod <i>Azotobacter</i>	23
4.1.4.	Rod <i>Nitrosomonas</i>	25
4.1.5.	Rod <i>Nitrobacter</i>	26
4.1.6.	Rod <i>Pseudomonas</i>	26

4.2. Rody anaerobních bakterií	31
4.2.1. Rod <i>Clostridium</i>	31
5. Využití	37
5.1. Eliminace uranu	37
5.2. Využití arzenu	38
5.3. Kompostování	38
6. Závěr	40
Seznam použité literatury	41
Seznam obrázků a tabulek	45

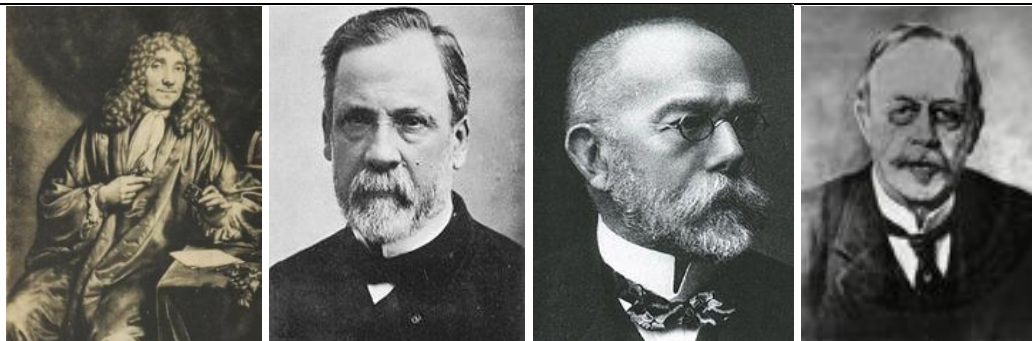
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

DNA	– deoxiribonukleonová kyselina
m – RNA	– mediátorová ribonukleonová kyselina
TNA	– total nitrogenase aktivity
YM	– yeast mold agar
PHB	– polyhydroxybutarát
r – RNA	– radianová ribonukleonová kyselina
CNS	– centrální nervový systém
G+	– grampozitivní
m – CP	– membrabe clostridium perfringens agar
SOD	– superoxiddismutáze
TSC	– tryptóza, siřičitan, cykloserin

1. Úvod a cíl bakalářské práce

Jednou z nejdůležitějších sfér naší planety je pedosféra, jejíž základní částí je půda. Půda je základním kamenem všeho živého kolem nás a je nejrozmanitější částí veškerého mikrobiologického světa. Už první zmínky o bakteriích se objevují v 17. stol a to v Holandsku díky dopisu, který byl adresován sekretáři Henrymu Oldenburgovi anglické Royal Society of London. Podepsaný byl Antonio van Leeuwenhoek. Antoni van Leeuwenhoek nebyl profesionální vědcem a nepatřil ani mezi vzdělance a přesto sestrojil jednoduché mikroskopy a od roku 1673 až do své smrti pravidelně psal dopisy o svých pozorování a studiích na Royal Society of London. Teprve v 19. století, 200 let po Leeuwenhoekovi, se dostává na přetřes otázka o činnosti a roli bakterií a ostatních mikroorganismů v přírodě. V této diskusi sehrál klíčovou roli Louis Paster. Louis Paster nebyl to pouze geniální přírodovědec, lékař, chemik a experimentátor, ale taky brilantní debatér. Ale byl zkladatelem nových vědeckých oborů stereochemie, mikrobiologie a imunologie. Objevil vakcíny proti sněti slezinné a vzteklině. Další výraznou osobností bakteriologie a následníkem Louise Pastera je na přelomu 19. a 20. století Robert Koch. Robert Koch byl to německý lékař a mikrobiolog, zakladatel bakteriologie a byl nositelem Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu (1905) objevil původce tuberkulózy a cholery. Jako první prokázal, že *Bacillus Antracixs* je původcem antraxu. Vypracoval Kochovy postuláty soubor postupů a pravidel. Vyvinul obrovské množství postupů fixace, barvení, fotografování preparátu a pěstování nových čistých kultur. Jedním z mnoha faktorů, které ovlivňují naši půdu jsou zásahy lidskou rukou a hlavně její nešetrného chování. To ovlivňuje veškerý výskyt zvířat, rostlin a i těch nejmenších zástupců jako jsou mikroorganismy. Posledním v době zlatého věku bakteriologie byl dánský mikrobiolog Christian Gram, který přispěl významnou měrou k jejímu rozvoji. Hans Christian Gram při hledání diferenciálně obarvit bakterie v živočišné tkáni popsal v roce 1884 způsob, který se používá dodnes, i když k jiným účelům, a který se nazývá Gramovo barvení bakterií.

Na obrázku č.1 jsou nejvýznamnější osobnosti 17. – 20. století, které se významně zapsaly do historie biologie a začátků mikrobiologie.



A. Leewenhoek

L. Paster

R. Koch

Ch.Gram

Obrázek č.1: Významné osobnosti 17. až 20. Století [1]

Cílem v předložené bakalářské práci je život půdních bakterií v půdě. Obecně je popsána půda, její hlavní složky k výskytu a vývoji bakterií. Půdní bakterie jsou zde popsány a zdůrazněny jejich klady a zápory. Zápory jsou většinou zdůrazněny ve spojení s toxicitou pro člověka.

Hlavním cílem bylo poukázat na bakterie, které jsou schopny odbourávat a přeměňovat radioaktivní látky na látky méně toxické v půdě.

2. Půda

2.1. Definice půdy

Půdu lze definovat jako samostatný přírodní útvar vzniklý z povrchových zvětralin zemské kůry a z organických zbytků za působení půdotvorných faktorů. Je životním prostředím půdních organismů, stanoviště pláně rostoucí vegetace, slouží k pěstování kulturních rostlin je regulátorem koloběhu látek, mlže fungovat jako úložiště, ale i zdroj potenciálně rizikových látek [1].

Půdu můžeme chápat, jako samostatný přírodně – historický útvar, který se tvoří v důsledku komplexního působení vnějších činitelů (klima, biologický faktor, podzemní voda) na matečnou horninu v určitém čase. Vzniká úplně nová substance, která se částečně podobá živé hmotě tím, že se nerozmnožuje. Jde pouze o obnovu, při níž se nezachovávají dědičné znaky [2].

Je to dynamický, stále se vyvíjející živý systém. Přežití a prosperita všech suchozemských biologických společenstev, přirozených i uměleckých, závisí na tenké vrchní vrstvě půdy. Je tedy bezesporu nejcennější přírodní bohatstvím. Je přirozenou součástí národního bohatství každého státu. Půdu je proto nutné chránit nejen pro současnou dobu ale i se značným výhledem do budoucna [3].



Obrázek č.2: Půda [2]

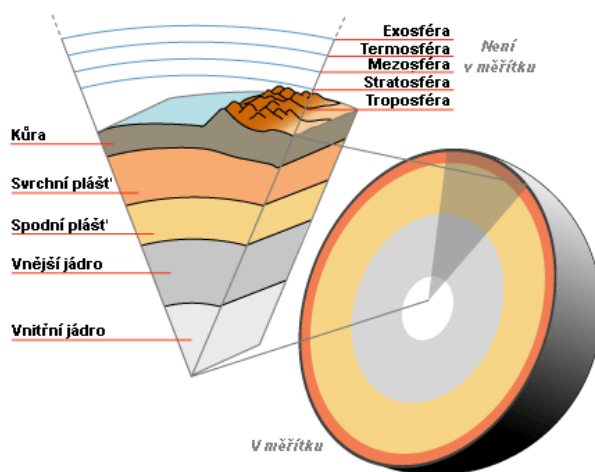
2.2. Funkce půdy

V důsledku mnoha složitých vazeb, jichž se půda v ekosystémech účastní, není možné jednoznačně specifikovat jednu nejdůležitější funkci půdy. Půda je nezastupitelná v plnění těchto funkcí:

- základním článkem potravního řetězce a současně substrátem pro růst rostlin
- je životně důležitou zásobárnou vody pro suchozemské rostliny a mikroorganismy a jejich filtračním čistícím prostředím, přes které voda prochází.
- mikroorganismy žijící v půdě jsou obrovskou a nedoceněnou zásobárnou genetické informace a umožňují průběh důležitých procesů v ekosystémech. Cyklus vody, uhlíku, dusíku, fosforu a síry probíhá v půdě prostřednictvím interakcí mikrobiální složky s fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Půdní organická hmota je hlavní suchozemskou zásobárnou uhlí, dusíku, fosforu, síry, bilance a přístupnost těchto prvků je neustále ovlivňována mikrobiální mineralizací a imobilizací.
- hraje zcela zásadní a nezastupitelnou roli ve stabilitě ekosystémů a v ovlivňování bilancí látek a energií. Působí jako environmentální pufrální medium, jež mimo jiné zadržuje, degraduje, ale za určitých podmínek i uvolňuje potenciálně rizikové složky.
- pochází mnoho základních složek stavebních materiálů a surovin, současně půda poskytuje prostor pro umísťování staveb, pro rekreační činnost a další aktivity člověka.
- půda je prostředím, v které probíhá archeologický a paleontologický výzkum [1].

2.3. Vznik půdy

Vznik, stavba a složení půdy jsou výsledkem působení klimatu, podzemní vody, živých organismů žijících v půdě i na jejím povrchu a lidské činnosti na výchozí substrát v určitém čase. Tyto faktory jsou tedy faktory půdotvorné a jejich působením půda vzniká a vyvíjí se na rozhraní litosféry, atmosféry biosféry a hydrosféry (obr. č.1) [4].



Obrázek č.3: Průřez Země [3]

Materiální základ půdní hmoty tvoří minerální substrát, který vznikl zvětráváním hornin pevné zemské kůry. Jeho význam jako jednoho z faktorů půdotvorného procesu je v podmínkách ČR zdůrazněn velkou pestroostí hodinného pokryvu a značnou členitostí našeho území. Půda prochází základními půdotvornými procesy[4]:

–**Mateční hornina** – jedná se o přírodní činiteli nenarušenou horninu magmatického, metamorfovaného či sedimentovaného původu. Jedná se o organický či minerální substrát, který dal vzniknout půdě. Je pasivním činitelem při tvorbě půdy. Patří zde skalní horniny a jejich zvětraliny, sedimenty.

–**Klima** – je nedílnou součástí, které nám ovlivňuje působení teploty a velká srážlivost vlastnosti půdy

–**Organismy** – intenzita jejich aktivity je závislá na úživnosti půdy a vhodného klimatu pro samostatný růst.

–**Reliéf** – největší význam má výšková poloha a sráživost a hlavně ovlivňuje půdy jejich teplotu

–**Antropogenní vlivy** – jsou zásahy člověka, které jsou většinou negativní než pozitivní

–**Čas** – je nesmírně důležitou složkou, jelikož čas je důležitý k průběhu všech reakcí

2.4. Složení půdy

Materiálovým zdrojem na tvorby půdy je hornina a různé živé a převážně odumřelé rostliny a živočišné organismy. Při vzniku a vývoji půdy, tedy při činnosti půdotvorných faktorů, probíhají různé typy procesů v půdě, jejichž povaha je závislá především na fyzikálních a chemických vlastnostech substrátu, na klimatických faktorech a biotické složce. Každý půdotvorný proces je nepřetržitý, nekončí vznikem půdního typu, ale je jeho součástí. Jde tedy o dynamické a komplikované procesy, které se mění tak, jak se mění podmínky vývoje půd. Půda je disperzní systém všech tří složek s největším obsahem je zastoupená pevná složka.

2.5. Složky půdy

Složky půdy můžeme rozdělit na:

–**Plynnou** obsahuje půdní vzduch, který se skládá z dusík, kyslík, oxid uhličitý a vodní páry

–**Kapalnou** je to půdní roztok (voda obsahující minerální prvky)

–**Pevnou** se skládá z anorganické (úlomky hornin, půdní částice, které nám udávají zrnitost) a organické – živé organismy a humus

Mezi pevnou, kapalnou a plynnou složkou, existují neustálá výměna molekul a iontů, ovlivňovaná fyzikálními, chemickými a biologickými procesy. Pevná fáze půdy je tvořena minerální a organickou složkou [4].

2.6. Vlastnosti půdy

Studium, popis a veškeré vyhodnocení veškerých souborů půdních znaků, vlastností a režimů jsou předpokladem půdní klasifikace. Za půdní znaky považujeme fenomény postižené smyslově (makroskopicky), a to často přímo v terénu. Jsou to zejména hloubky půdy a humusového horizontu, barva půdy, jejich struktura, zrnitostní složení, vlhkostní poměry a konzistence [5].

Barva

je jedním z nejdůležitějších půdních znaků. Podle barvy půd můžeme usuzovat např. charakter matečného substrátu. Zbarvení půdotvorného substrátu může výrazně ovlivňovat i zbarvení celého půdního profilu a do jisté míry maskovat i jinak charakteristické zbarvení jednotlivých půdních horizontů. Intenzita tmavošedých, šedých až černavých odstínů svědčí o obsahu a do jisté míry i o složení humusu. Další výrazný znak je půdní struktura, kterou se udává stmelení jednotlivých půdních částí a do větších agregátů jílových substancí, organickými látkami, sloučeninami železa. Také někdy se na tvorbě struktury významně podílejí objemové změny půdy při střídavé vlhkosti. Zrnitostní složení se někdy nazývá mechanická skladba nebo také textura, je jedním z nejvýznamnějších půdních znaků[5]. Zrnitost zeminy, je dána zastoupením jednotlivých velikostně rozdílných minerálních částic. Pórovitost vyjadřuje procentuální množství volného prostoru, který není vyplněn pevnými částicemi v půdě. Volný prostor se pohybuje kolem 50% v celkovém objemu půdy. Je důležitou částí pro fyzikální vlastnosti půdy. Humusová složka ovlivňuje lesní půdy. Pórovitost humusu může dosahovat až 80% a v minerálních půdách 40%[6].

Teplota

půdy je významný faktor pro biologickou aktivitu půdy. Ovlivňuje také přezimování a klíčení rostlin, jejich výživu. Zdrojem tepla v půdě je hlavně sluneční energie a poté biologická aktivita, která svou činností půdu zahřívá. Teplotní režim je řízený denním a sezónním střídáním teplot, vlhkostí a vegetací. Při dosažení teplotního maxima půdy dochází

k poklesu aktivity a poškozování funkcí buněk. Kořeny rostlin reagují na změnu teploty velmi citlivě, i když se jedná jen o změnu jednoho stupně Celsia[9].

Organismy

Živočichové nejsou zase až tak citliví na nižší teploty, jejímu nepříznivému vlivu se brání třeba migrací do jiné části půdy. Půdní mikroorganismy se liší svou termotolerancí, obecně platí, že při zvýšení teploty o 10°C v rozmezí 0-30 °C dojde až ke ztrojnásobení jejich aktivity. [9]

pH

Hodnota pH je ukazatelem živin obsažených v půdě, významně ovlivňuje půdní procesy, mobilitu živin a rizikové prvky. Půda kyselého charakteru, s hodnotou pH 4,5 až 6,5 obsahuje malé množství vápníku a rostliny nejsou schopny přijímat některé živiny a stopové prvky. V přírodě rostou v těchto kyselých půdách přirozeně například jitrocel a sedmikráska. Rozmezí hodnot pH 5,5-6,5 vyhovuje především bramborám, ovocným stromům a trávě[7].

2.7. Huminifikace

Je proces, při kterém vzniká humus, který je tvořen odumřelou hmotou organického původu. Organická hmota je v určitém stupni rozkladu, který přímo ovlivňuje kvalitu půdy. V první etapě procesu humifikace dochází k rozkladu a přeměně organické hmoty na jednodušší organické látky, což jsou polysacharidy, proteiny, lipidy, lignin a třísloviny. Na všechny tyto látky působí určité mikroorganismy, které způsobují jak úplnou mineralizaci na oxid uhličitý, vodu a amoniak, tak neúplný rozklad na fenolické látky a dále peptidy a aminokyseliny. Ve druhé etapě již dochází k syntéze humusových látek. Zde již huminové látky pomalým rozkladem za uvolňování oxidu uhličitého vytváří humus [8].

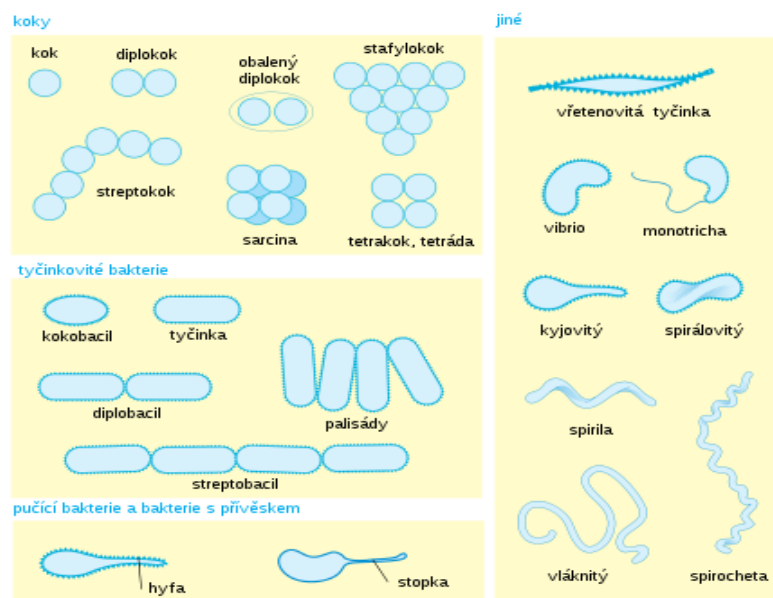
3. Bakterie

3.1. Charakteristika bakterií

Bakterie jsou jednobuněčné organismy, které v průměru mívají velikost řádově několik milimetrů. Studium a objevování nových o bakteriích se zabývá bakteriologie. Bakterie se řadí do nejpočetnější skupiny všech organismů na světě. V dřívějších dobách se řadily a rozpoznávaly pouze díky tvaru. Dnes už se dělí zejména díky genetickým metodám, o kterých můžeme říct, že nám rozlišují asi kolem 25 základních kmenů bakterií. Celkový počet druhů bakterií se odhaduje na 10^7 až 10^9 [10]. Bakterie se vyskytují téměř všude kolem nás, je nalézáme v půdě, vodě, ovzduší i dokonce jako symbionty uvnitř či na povrchu mnohobuněčných organismů. V jednom gramu půdy můžeme nalézt zhruba 40 miliónů bakterií a v jednom mililitru sladké vody se může vyskytnout přibližně 1 milion bakterií [11]. Bakterie jsou speciální v tom, že jsou dosti přizpůsobivé a dokážou se přizpůsobit velmi náročným podmínkám pro jejich výskyt. Například se vyskytují ve vroucích vodách sopečných jezer, nebo v nejvyšší vrstvě atmosféry. Některé druhy bakterií jsou dle výzkumů schopny přežít i ve vesmíru, tedy ve vakuu a o teplotě $-270\text{ }^{\circ}\text{C}$ [12]. A to je jeden z hlavních rozdílů od ostatních mikroorganismů. Prostředí, ve kterém rostou, jsou jedním ze základních hledisek celkového výskytu bakterií. Důležitá je teplota, pH prostředí a množství kyslíku.

3.2. Morfologie bakterií

Přestože jsou bakterie po fyziologické stránce velmi rozmanité, ale po morfologické stránce nejsou mezi jednotlivými rody velké rozdíly. Tvar buněk bakterií je nejčastěji tyčinkovitý, méně častější jsou kulovité. Vlákňitý tvar bakterií se vyskytuje u poměrně rozsáhlé skupiny půdních bakterií patřící do řádu *Actinomycetales* a u některých dalších rodů [13].



Obrázek č.4: Tvary buněk [4]

– Tyčinkovité bakterie jsou rovné, zakřivené, nebo ve tvaru pravidelné spirály, ale také dlouhé nepravidelné spirály. Různé druhy bakterií se liší poměrem délky buňky k šířce, takže se vyskytují jak druhy tvořící velmi krátké tyčinky podobné spíše kokům, tak i druhy tvořící dlouhé tyčinky připomínající spíše krátká vlákna. U mnoha tyčinkovitých bakterií se však délka buněk pohybuje v rozmezí od 1 do 3 μm u téhož druhu závisí na vnějších podmínkách, tedy na fyziologickém stavu buněk. Buňky, které se velmi intenzivně rozmnožují, jsou mnohem kratší než buňky klidové. Naproti tomu šířka tyčinkovitých buněk je u daného druhu poměrně stálá. Tyčinkovité bakterie se rozmnožují příčným dělením buňky.

– Kulovité vegetativní buňky bakterií se nazývají koky. Jestliže se rozmnožují dělením pouze v jedné rovině, tvoří řetízky, např. Rod *Streptococcus*, při dělení ve dvou na sebe kolmých rovinách tvoří pravidelné balíčky po osmi až několika stech buňkách (tzv. sarciny). Pokud dochází k dělení koků v různých rovinách, vznikají tak nepravidelné shluky buněk, které jsou např. rod *Streptococcus*.

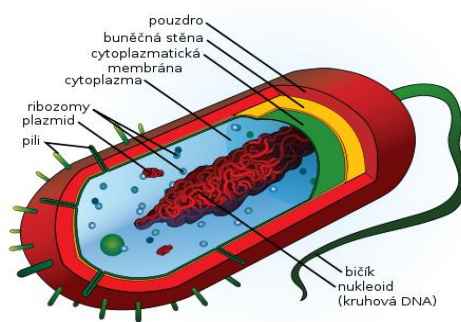
– Vlákňitý tvar bakterií, vyskytující se řádu *Actinomycetales*, je charakterizován pravým větvením. Rozmnožování zde probíhá jednak dělením buněk ve vláknech, a tedy rozmnožováním vláken, jednak tvorbou jednobuněčných útvarů čili spor, vznikající podél vláken nebo jejich konci rozpadem vláken v jednotlivé buňky. U některých rodů se tvoří spory uvnitř buněk (tzv. endospory). Některé další rody (např. sirné bakterie rodu *Beggiatoa*) vytvářejí poměrně silná nerozvětvená ohebná vlákna, složená z řetězce buněk. Jiné bakterie tvoří vlákna tím, že kolem řetězů jejich buněk vznikají vláknité pochvy, které jsou u některých rodů vyplněny oxidy železa nebo manganu[13].

– Větvené bakterie vytvářejí buďto náznaky větvení nebo větvení úplné. Druhá skupina může vytvářet bakteriální mycelia.

Vyskytují se bakterie, které vytvářejí kolonie podobné tělu jednoduchých mnohobuněčných eukaryot. Patří k nim některé sinice (např. *Anabaena*), myxobakterie (*Myxococcales*) a další skupiny. Mykobakterie dokonce tvoří za určitých podmínek makroskopické plodničky se sporami uvnitř [14]. Také u velmi dobře známých bakterií, které napadají lidské tělo, se ukazuje, že dokáží díky molekulárním signálům synchronizovat své chování. Můžeme i říct, že „táhnout za jeden provaz“[15]

3.3. Stavba buněk bakterií

Stavba prokaryotních bakterií je zvýrazněna na obr. č.5



Obrázek č.5: Stavba buňky [5]

3.3.1. Prokaryota

Bakteriální buňky, které jsou prokariotní se vyznačují jednodušší stavbou než eukaryotní buňky. Prokariotní buňky mají značné množství charakteristických vlastností. Uvádějí se tři charakteristiky prokariotní buňky [16].

- Organizací nukleotidu, který není oddělen od okolí cytoplazmatické membrány. Skládá se z jedné velké molekuly DNA na níž nejsou histony ani jiné bazické bílkoviny.
- Nepřítomnost organel v prokaryotické buňce nejsou mitochondrie, plastidy, endoplazmatické retikulum ani jiná organela s membránou.
- Vlastnosti ribozomů prokaryot se od eukaryot liší svou hmotností i velikostí

Přestože existují značné rozdíly mezi stavbou buněk různých skupin bakterií, lze vystopovat určité společné rysy.

3.3.2. Buněčná stěna bakterie

Na povrchu buněk má většina bakterií buněčnou stěnu z peptidoglycanu (mureinu), jenž obsahuje kyselinu muranovou jako jednu z hlavních složek. Peptidoglycan tvoří pevnost a neohybnost buněčné stěny bakterií. Buněčná stěna je však velmi proměnlivá není pro molekuly nepropustná, má charakter síta [17]. Mimo jiné je důležitým znakem při rozlišování bakterií. Další složky buněčné stěny jsou u grampozitivních a gram negativních bakterií. Zjišťující pomocí metody Gramova barvení. Používá se při určování rodů bakterií, nebo při diagnostice bakterií.

Jako grampozitivní bakterie se označují ty bakterie, jejichž usmrcené buňky po obarvení gramovým barvicím roztokem a následném moření v jodovém roztoku. Neztratí toto barvivo působením rozpouštědel (tj. acetonu nebo etanolu). Hlavní složkou buněčné stěny je silná peptidoglykanová vrstva, která je jako tmelem vyplněna tzv. Teichoovou kyselinou, polysacharidy složené z glukosy, galaktosy, mannosy a dalších monosacharidů. Základem teichoové kyseliny je u některých bakterií polyglycerolfosfát a u jiných polyribitolfosfát [13]. Grampozitivní bakterie mají řadu společných fyziologických vlastností, odlišujících je od

gramnegativních bakterií. Mají citlivost některým antibiotikům, aniontovým povrchově aktivním látkám a jedovatým barvivům).

U gramnegativních bakterií je toto barvivo z obarvených buněk uvedenými rozpouštědly vyplavováno, takže se buňky odbarví. Gramnegativní bakterie neobsahují teichoovou kyselinu a s poměrně tenkou vrstvou peptidoglykenem mají za příčinu vyplavování komplexu Gramova barviva z buňky působením acetonu nebo etanolu [13, 18].

3.3.3. Cytoplazmatická membrána bakterie

Cytoplazmatická membrána bakterií je velmi jemná a tenká membrána. Skládá se z fosfolipidů a proteinů, přičemž proteiny představují 50 až 70% její sušiny. Z cytoplazmatické membrány bakterií vybíhají do cytoplazmy vychlípeniny, jejichž počet a velikost jsou závislé na druhu bakterií. Cytoplazmatická membrána je sídlem dýchacích enzymů, systému oxidační fosforylace, enzymů syntézy a hydrolýzy fosfolipidů a konečné fáze syntézy složek buněčné stěny a pouzdrových obalů. V cytoplazmatické membráně bakterií jsou dále přítomny bílkovinné přenašeče nutné pro transport látek do buňky a z buňky [13].

3.3.4. Cytoplazma bakterií

Kromě běžných složek přítomných ve všech mikrobiálních buňkách obsahuje cytoplazma některých bakterií také různá barviva. Nejčastěji jsou to karotenoidní barviva, která zbarvují buňky a jejich kolonie do žlutě, růžově, případně červeně. V buňkách některých bakterií jsou červená barviva melanoidního typu. Karoteny ani melaniny a vzácněji některá další barviva nejsou živými buňkami uvolňována do růstového prostředí. Řada dalších barviv produkovaných bakteriemi je však exkretována do prostředí. Patří sem žlutozelená až červená barviva fenazinové povahy, tvořená některými příslušníky rodu *Pseudomonas*, a různá barviva aktinomycet [13].

3.3.5. Prokaryota

Uvnitř bakteriální buňky se nachází protoplast. Je to množství různých struktur a organel rozptýlených v cytosolu. Mezi nejvýznamnější vnitrobuněčné struktury a bakterií patří nukleoid, ribozomy, inkluze a cytoskelet. V cytosolu jsou rozptýlené i jiné struktury,

kterými sou různé proteiny, mRNA a bakteriální metabolity. Nukleotid, nebo-li bakteriální chromozom je jaderná oblast bakterií, tedy jediný obvykle kruhový řetězec tvořený dvěma vlákny deoxyribonukleonové kyseliny (DNA). Vzácně je však DNA bakterií i lineárně nebo rozdělena do více chromozomů. V protoplastu se nevyskytují histony ani nuklozomy. Celá oblast z pravidla není obklopena žádnou membránou. Ale vyskytují se i výjimky např. Planktomycet, Poribobakterie u kterých byly nalezeny membránové struktury. V cytoplazmě se dále vyskytují plazmidy. Jsou to malé úseky DNA. V prokaryotech to jsou Ribozomy. Jsou to často charakterizovány +30S, +50S, takto je vyjadřována velikost a struktura ribozomálních pod jednotek. Ribozomy bakterií jsou odlišné od eukaryotních nejen délkou protejnů, ale i jejich typem, čímž se logicky stávají častým cílem antibiotik a poslední částí jsou váčky nebo zrna které se nazývají inkluse. Z pravidla slouží jako zásobní struktury. Mohou skladovat glykogen, fosfáty, elementární síra někdy však barviva či enzymy[19].

3.3.6. Vnější orgány

Mnoho bakterií má na povrchu ještě další polysacharidovou či proteinovou ochrannou vrstvu, tzv. kapsli. Její funkcí je dále zpevňovat povrch bakterií (bakterie s kapsulou jsou díky tomu více patogenní) a navíc se lépe přichytit k substrátu. Někdy se díky slizovitým, méně soudržným kapsulám (zvaným slizová vrstva) vážou jednotlivé buňky v bakteriálních koloniích. Dohromady se kapsule a slizové vrstvě také říká glykokalyx. Vyjma plošných útvarů, které kryjí buňku, se vyskytuje na povrchu ještě řada jiných struktur, jako jsou například bičíky a pilusy (rovněž zvané fimbrie). Bičíky jsou vlasovité (asi 20 nm silné, 20 μ m dlouhé) struktury ukotvené v membráně, tvořené helikálně složeným proteinem flagelinem a sloužící k pohybu. Bakterie mohou mít žádný, jeden (monotricha) nebo i více na jedné straně (lofotricha), dva uspořádané proti sobě (amfitricha) či velký počet bičíků rozložených po celém povrchu bakterie (peritricha). Bičíky bakterií se stavbou značně liší od bičíků eukaryot. Pilus čili fimbrie je druhým charakteristickým vlasovitým útvarem, ale kratší, tužší a užší v průměru. Pilusy bakterie využívají k přichycení na podklad (adheze), ale specializované sexuální pilusy (F pilusy) slouží k přenosu DNA (sexualita bakterií) [19].

3.4. Rozdělení podle fyziologických vlastností

Z fyziologické stránky jsou mikroorganismy velice rozmanité. Jednotlivé skupiny mikroorganismů se vzájemně liší svými nároky na výživu, kyslík a způsobem získávání potřebné energie. Mikroorganismy, které mají odlišné nároky na výživu, můžeme rozdělit na:

- Autotrofní mikroorganismy a to zejména jsou takové, kterým stačí pouze anorganické látky. Přítomnost organických sloučenin obvykle inhibuje jejich rozmnožování. Tyto mikroorganismy jsou schopny syntetizovat všechny složky své buněčné hmoty z organických sloučenin. Některé z nich získávají energii oxidací anorganických sloučenin, jiné využívají světelné energie, jako zdroje uhlíku pro syntézu své buněčné hmoty využívají oxidu uhličitého a jako zdroj dusíku amonných solí nebo dusičnanů, v některých případech i plynného dusíku.
- Heterotrofní, které vyžadují přítomnost organických sloučenin v živém prostředí, ať už jako zdroj uhlíku, vodíku nebo energie. Patří zde většina bakterií. Heterotrofní mikroorganismy dále rozdělujeme na prototrofií, kterým stačí k výživě jednoduché organické uhlíkaté sloučeniny spolu anorganickými solemi a na auxotrofní, které kromě toho vyžadují některé složité sloučeniny[13].

3.4.1. rozdělení bakterií podle nároků na kyslík

- Aerobní, které vyžadují vzdušný kyslík, neboť mají vyvinutý pouze aerobní metabolismus. Patří sem zejména octové bakterie rodu *Acetobacter* a některé hnilobné bakterie.
- Anaerobní, které nevyužívají volný kyslík, neboť mají pouze anaerobní metabolismus. Vzdušný kyslík na ně působí inhibičně. Zejména bakterie sporotvorné rodu *Clostridium*.
- Mikroaerofilní, které mají anaerobní metabolismus, avšak nízké koncentrace kyslíku, urychlují jejich rozmnožování. Zde jsou zejména mléčné bakterie rodu *Lactobacillus*
- Fakultativně anaerobní, které mají schopnost aerobního i anaerobního metabolismu, takže mohou růst za přítomnosti i nepřítomnosti vzdušného kyslíku. Za aerobních podmínek většinou rostou rychleji. Jelikož aerobní metabolismus přeměňuje substrát v energii a tím poskytuje mnohem více energie pro růst buněk než metabolismus anaerobní[13].

3.4.2. Metabolismus

U bakterií je známo velké množství různých metabolických procesů, pravděpodobně mnohem víc než u eukaryotních organismů. Tradičně byl typ metabolismu jedním ze základních znaků pro taxonomii bakterií, ale dnes se ví, že taxonomie založená na těchto znacích často neodpovídá skutečnému fylogenetickému vývoji. Metabolická aktivita je samozřejmě podmíněná obsahem biogenních prvků v substrátu (uhlík, dusík, síra, fosfor) a vhodného zdroje energie k biosyntetickým procesům [20]. Bakteriální metabolismus můžeme rozdělit podle tří kritérií: druh užívané energie, zdroj uhlíku a donor elektronů. Dle druhu užívané energie se rozlišují bakterie fototrofní a chemotrofní, podle zdroje uhlíku na autotrofní a heterotrofní a dle donorů elektronů na litotrofní a organotrofní. Tyto termíny jsou vzájemně kombinovatelné, proto například cyanobakterie jsou fotoautotrofní [21, 22].

Fototrofní mikroorganismy, jejichž zdrojem energie je přeměna světelné energie v energii chemickou, která je pak využitelná pro životní pochody buňky. Podobně jako rostliny potřebují i fototrofní mikroorganismy k přeměně světelné energie v energii chemickou chlorofyl. Kromě toho zeleného barviva obsahují některé fototrofní mikroorganismy ještě karotenoidní barviva, jejichž funkci je absorbance světla a jeho předání do reakčního centra v chlorofylu. Fototrofní mikroorganismy syntetizují buněčnou hmotu z anorganických živin a oxidu uhličitého, k jehož redukci používají různé sloučeniny. Podle toho rozeznáváme.

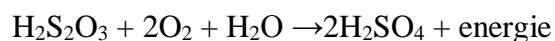
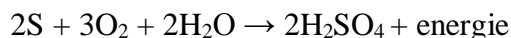
– Fotolithotrofní (neboli fotoautotrofní) organismy, jimž vodík pro redukci oxidu uhličitého poskytují anorganické sloučeniny, takže jde o autotrofní mikroorganismy. Voda slouží jako zdroj vodíku pouze u cyanobakterií a řas. Sirné fototrofní bakterie používají jako zdroj vodíku pouze sulfan nebo thiosíran. Jsou to anaeroby a jsou přísnými fototrofy. Patří sem především již zmíněné cyanobakterie (sinice), dále zelené sirné bakterie, zelené nesirné bakterie, heliobakterie, purpurové sirné bakterie (chromatiaceae a ectothiodospiraceae obsahují vedle některého bakteriochlorofylu ještě karotenoidní barviva) a v r. 2007 byly popsány chloracidobakterie.

– Fotoorganotrofní (neboli fotoheterotrofní) organismy, jimž slouží organické sloučeniny jako zdroj vodíku pro redukci oxidu uhličitého a také jako zdroj uhlíku. Patří sem nesírné purpurové bakterie rodu *Rhodospirillaceae*, které vedle bakteriochlorofylu obsahují ještě karotenoidní barviva. Většinou jsou schopny využívat také plynný vodík. Za světla je jich metabolismus anaerobní, avšak ve tmě jsou schopny aerobně oxidovat organické sloučeniny, aby získaly potřebnou energii. Nesou schopny tedy ani přísnými anaeroby, ani přísnými (striktními) fototrofy. Sírné a nesírné fototrofní bakterie jsou schopny za světla a v anaerobních podmínkách využívat vzdušný dusík.

Chemotrofní bakterie, tedy bakterie využívající energie organických sloučenin, mohou být rovněž dvojího typu. Na takzvané chemoautotrofní totiž získávají uhlík z oxidu uhličitého a chemoheterotrofní z organických sloučenin.

Chemoautotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací anorganických sloučenin. Jsou to většinou aerobní autotrofní bakterie. Patří sem:

– Bezbarvé sírné bakterie a vláknité sírné bakterie získávají energii oxidací síry a jejich sloučenin, především sulfanu:

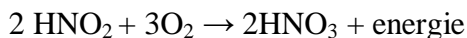


Síru, jako rezervní zdroj energie, ukládají ve formě zrníček ve svých buňkách. Někteří příslušníci rodu *acidithiobacillus* produkují tolik H_2SO_4 , že silně okyselující prostředí (na pH 0,5 a nižší). Tím přispívají k rozpouštění hornin a zvyšování tvrdosti vody. Jsou také hlavní příčinou koroze kovových konstrukcí a potrubí, uložených v zemi. Příslušníci čeledi *Beggiatoaceae* mohou získat energii také oxidací organických sloučenin.

– Nitrifikační bakterie (*Nitrobakteraceae*) získávají energii oxidací sloučenin dusíku. Patří sem rody *Nitrosomonas*, *nitrosococcus* aj., které jsou přísnými (obligátními) chemolithotrofy, získávajícími energii oxidací amoniaku na dusitany:



Dále sem patří rody *Nitromonas*, *Nitrococcus* aj., jimž slouží jako zdroj energie oxidace dusitanů na dusičnany:



Rod *Nitrococcus* je obligátní chemolithotrof, kdežto některé kmeny rodu *Nitrosomonas* mohou získávat energii také oxidací organických sloučenin. Nitrifikační bakterie hrají velmi důležitou roli v koloběhu prvků v přírodě, neboť oxidují amoniak vzniklý mikrobiálním rozkladem bílkovin a jiného organického materiálu. Na značný výskyt a vysokou aktivitu těchto bakterií lze usuzovat ze zkušeností, že většina dusíkatých rezerv půdy předchází ve formě rozpustných dusičnanů do vodních toků.

– Železité bakterie (siderocapsacae), získávající energii oxidací železnatých iontů na železité. Jsou to kulovité až tyčinkovité bakterie, vyskytují se ve vodách bohatých na železnaté ionty a hromadí nerozpustné železité sloučeniny ve svých slizovitých obalech nebo mimo své buňky. Jejich činností vznikla ložiska železitých rud, a proto mají velký geologický význam. Naproti tomu tzv. vláknité železité bakterie, které ukládají sloučeniny železa nebo manganu ve formě dlouhých pouzder podél řetězců svých buněk jsou většinou chemoorganotrofní, neboť získávají energii oxidací organických sloučenin. Chemolithotrofní je však rod *Gallionella*, který vytváří z železitých sloučenin vláknité pochvy. Jeho činnost má za následek ucpávání potrubí, jimž prochází voda s vysokým obsahem železnatých iontů. Tento rod je řazen mezi pučící bakterie.

– Bakterie využívající pouze methan a metanol (rody *Methylomonas* a *Methylococcus*). Tyto bakterie jsou obvykle zařazovány mezi chemolithotrofní mikroorganismy, neboť nejsou schopny využívat žádné další organické sloučeniny a pro syntézu své buněčné hmoty používají oxid uhličitý. Získávají energii reakcemi:



Některé druhy však získávají energii také oxidací sacharidů a jiných organických sloučenin, takže nejsou přísně chemolithotrofní, ale jsou mixotrofní.

– Chemoheterotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací organických sloučenin, jichž využívají také jako zdroj uhlíku, vodíku a většinou i kyslíku k syntéze své buněčné hmoty. Do této skupiny patří i kvasinky, plísně a většina bakterií. činnost chemoorganotrofních mikroorganismů je důležitá v přírodě, ale i v průmyslu. V přírodě jsou společenství různých druhů těchto mikroorganismů schopna rozložit veškeré organické sloučeniny živočišného i mikrobiálního původu až na oxid uhličitý, vodu a amoniak a vracet tyto látky do koloběhu, který je nutný pro zachování života na naší planetě. Činnost těchto mikroorganismů je žádoucí jednak ve vodních tocích, mořích a umělých vodních nádržích, neboť způsobuje tzv. samočistění vod, jednak v půdě, neboť zvyšuje její úrodnost. Chemoorganotrofní mikroorganismy jsou však na druhé straně původci nežádoucího rozkladu potravin a potravinářských surovin. Mezi chemoorganotrofní mikroorganismy patří patogenní mikroorganismy, které způsobují nemoci člověka, zvířat nebo rostlin [13, 18, 19].

Bakterie díky svým unikátním metabolickým pochodům hrají významnou roli v koloběhu látek, a to zejména v koloběhu uhlíku, dusíku a síry. Tím, že se podílejí na rozkladu organických látek, vrací do atmosféry oxid uhličitý. Některé bakterie dokáží z atmosféry fixovat vzdušný dusík, jako například *Rhizobium*, či sinice *Anabaena* a *Nostoc*. Některé z těchto bakterií jsou rovněž obsaženy v hlízkách bobovitých rostlin. Významné jsou i bakterie, zapojené v přeměně dusíkatých látek na dusitany a dusičnany, případně zpět na vzdušný dusík [23]

4. Druhy půdních bakterií

Půdní bakterie jsou to mikroorganismy zastoupeny v mnoha rodech. Půdní bakterie rozdělujeme na bakterie aerobní a anaerobní bakterie. Je to důležitá charakteristika těchto bakterií.

1. Aerobní bakterie: řadíme mezine například *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*

- bakterie striktně aerobní ke svému růstu nezbytně potřebují kyslík

- bakterie fakultativně aerobní mohou růst za přítomnosti kyslíku, ale v takovémto prostředí rostou pomaleji

2. Anaerobní bakterie: mezi, které se řadí rod *Clostridium*. Anaerobní bakterie se dále třídí na další skupiny:

- bakterie striktně anaerobní, které pro život potřebují zamezení přístupu vzduchu, protože je pro ně jedovatý a prostředí typická pro tyto bakterie jsou rašeliniště, dna vod nebo bahenní sedimenty

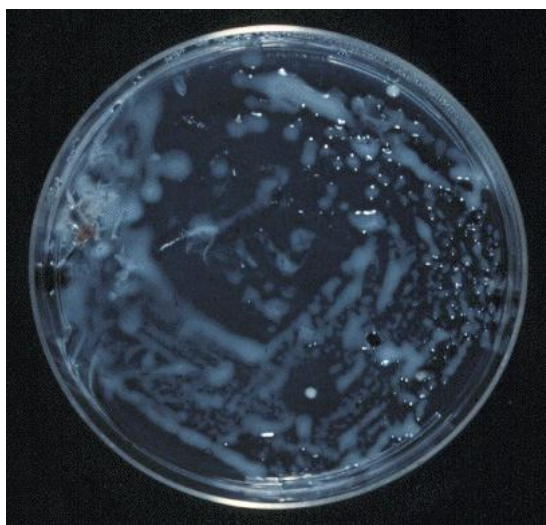
- bakterie fakultativně anaerobní mohou růst za nepřítomnosti kyslíku, ale v takovémto prostředí je jejich růst pomalejší, protože využívají kyslík jako zdroj energie.

- bakterie aerotolerantní pro život kyslík nepotřebují a ani jim do jisté míry nevadí

4.1. Rody aerobních bakterií

4.1.1. Rod *Rhizobium*

Rhizobium je rod gramnegativních půdních bakterií z řádu *Rhizobiales*, které fixují dusík. Patří mezi tzv. hlízkové bakterie, vyskytují se v hlízkách bobovitých rostlin. Jsou nevytrusné, formované středního rodu buňky, které obsahují enzym komplexu s názvem TNA a jsou typicky pohyblivé (viz. Obr. č. 6)



Obrázek č.6: *Rhizobium* [6]

Jejich buněčná morfologie a biochemické vlastnosti jsou velmi podobné nesymbiozním dusíkatým baktériím zvané *Azotobacter*. Hlavním rozlišovacím rysem *Rhizobium* je jejich schopnost vázat luštěniny. *Rhizobia* jsou převážně aerobní chemoorganotrofní a rostou dobře v přítomnosti kyslíku a využívají širokou škálu relativně jednoduchých sacharidů a amino sloučeniny. S výjimkou několika kmenů, které nebyly nalezeny v dusíkatých volně žijících formách, kromě zvláštních podmínek, které se vyskytují. Optimální růst z většiny kmenů dochází u teplot v rozmezí 25-30 °C a při pH na 6,0 -7,0. Navzdory tomu, že jsou obvykle aerobní, mnohé kmeny mají schopnost výrazně růst v podmínkách s minimálním obsahem kyslíku. *Rhizobium* je obklopena slizká capsule tvořena z exopolysacharidů, které ji chrání

před vysycháním. A také pomáhají držení bakteriálních kořenových vlasů při různých fázích jeho životního cyklu[24]. Existují tři druhy *Rhizobia*. Patří mezi ně *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti* je kruhový chromozóm, který obsahuje dva kruhové megaplasmidy, z nichž jeden obsahuje uzlinu, která fixuje geny dusíku. Jeho hostitelské rostliny jsou vojtěška, *Medicago sativa* a *Rhizobium loti* velký kruhový chromozóm, do kterého jsou uzlíky fixovaného dusíkatého genu sjednoceny se nazývají "symbiózní ostrov" dva kruhové plasmidy. Jeho hostitelské rostliny jsou *Lotus japonicus* a příbuzných druhů. Všimněte si, že srovnání několika základních genů naznačuje, že tento kmen je více podobný typ kmen *huakuii M.* Druh *Rhizobium leguminosarum* je dále rozdělen do tří biotvarů [25].

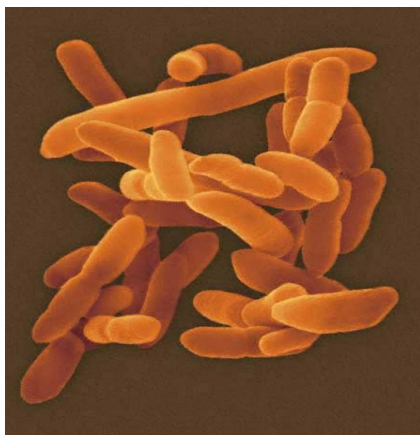
Členové rodu *Rhizobium* obvykle chrání půdy a jejich identifikace je poměrně snadná, pokud jsou izolované z rostliny jako konkrétní host, ale pokud se jedná o případ izolovaných půd. Potom je obtížné je určit. *Rhizobia* nejsou dobře rostoucí na peptonovém mediu, které se běžně používá pro mnohé bakterie. Proto se využívají Kvasinky mannitol (YM), jako nejvhodnější medium pro jejich růst. Mannitol je často používán jako zdroj uhlíku. Různé chemické přísady jsou používány v médiích pro potlačení nebo k růstu *Rhizobia*. Bromthymol modrý působí jako indikátor pH po přidání do standardní YM médium. Rychle rostoucí rhizobia produkují kyselé reakce v tomto mediu, zatímco u pomalých produkují alkalické reakce. Obecně řečeno *Rhizobia* absorbuje barvivo slabě, zatímco mnoho jiných bakterií silně. Media v níž kvasnicový extrakt, nahrazuje s anorganickými kombinacemi dusíku nebo jednou či více aminokyselinami nebo vitamíny, může být použit k určení konkrétního nutričního organismu. Požadavky metabolického chování a růstu výrobků[24].

Rhizobium je typ dusíkatých baktérií, které žijí v půdě. Tvoří symbiózu s kořenovými hlízkami luštěnin. Luštěniny jsou travní dřeviny, které produkují semena v luscích, příklady z luštěnin jsou hrách, fazole, vojtěška, jetel. Tento symbiotický vztah mezi bakterií a kořenovou tkání je oboustranný, což znamená, že oba organismy mají prospěch z tohoto spojení. Kořenové buňky poskytují živiny a sacharidy na energii pro bakterie a bakterie na oplátku, dodávající zázemí z pevných dusíkatých sloučenin. Pouze druh *Rhizobia* je možné spojovat s druhy luštěnin. Je to běžné z praxe před výsadbou semen luštěnin, se naočkuje s *Rhizobium*, protože ne všechny půdy obsahují dané vlastnosti druhu *Rhizobia* pro optimální symbiózu s danou luštěninou. Bylo prokázáno, že rostlina při zvýšení produktivity jsou

přítomny *Rhizobia*. *Rhizobium* uvádí hlavní biologické zdroje pevné dusíku v zemědělských půdách. Je odpovědná za značné množství fixace dusíku, tento druh lze stanovit až do 220 liber N₂ na zemědělský akr ročně. Většina výzkumu a práci na fixaci dusíku se provádí pomocí tohoto organismu proto je *Rhizobium* tak významné pro zemědělství a přesněji pro luštěniny, že jsou vytvářeny výzkumy[24].

4.1.2. Rod *Arthobacter*

jedná se o rod bakterií, které jsou běžně v půdě, jsou to grampozitivní obligátní anaerobní bakterie, které mají kokovitý tvar. Tento rod je metabolicky univerzální, produkuje mnoho různých enzymů, které mu umožňují růst na široké škále substrátu. Bakterie *Arthobacteru* jsou velmi odolné i vůči vyschnutí a nedostatku živin.



Obrázek č.7: *Arthobacter* [7]

Charakteristickým rysem je tvar buněk, změny v průběhu a růstového cyklu, obvykle tvoří tyčinky, ale v průběhu exponenciálního růstu se mění na koky[26]. Kolonie *Arthobacter* jsou nazelenavé barvy, které se vyskytují na minerálních solí pyritového vývaru. Inkubují při teplotě 20 °C. zástupci jsou *Arthobacter aurescens* [27].

4.1.3. Rod *Azotobacter*

Azotobacter jsou to nesymbiotické, mezofilní, aerobní bakterie fixující nesymbiotický vzdušný dusík je z rodu gramnegativních pleomorfních bakterií, to znamená, že jednotlivé buňky mají různou velikost i tvar. Buňky bývají 2-10 µm dlouhé a jsou 1-2 µm široké.

Některé druhy mají bičíky a jsou pohyblivé. Bakterie se vyskytují volně v půdě s vyšším obsahem organických látek (viz. Obr. č.8)



Obrázek č.8: Azobakter [8]

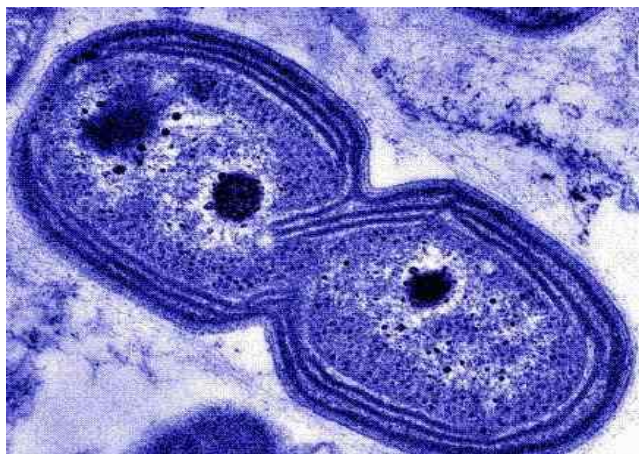
Staré buňky tvoří dvojlomné, tlustostěnné cysty z polysacharidů, ve kterých dokážou přežít nepříznivé podmínky, i když tyto cysty nejsou tak odolné jako endospory grampozitivních bakterií. Vytvoří 15-20 mg dusíku na 1 g substrátu (glukóza, alkoholy, organické látky) přijímá škrob[28].

Azotobacter je rod volně žijící v diazotrophických bakterií, jejichž klidovou fází je cysta. Primárně se nachází v neutrálních až alkalických půdách, ve vodním prostředí, a na některých rostlinách. To má několik metabolických souladů, včetně chemické fixace dusíku v přepočtu na amoniak. Jejich unikátní systém tří odlišných nitrogenázových enzymů dělá z těchto bakterií nevšední, a proto upoutává zvláštní zájem k vědcům, kteří mohou pracovat na lepším pochopení fixaci dusíku a jeho role v zemědělství. *Azotobacter spp.* má nejvyšší rychlost metabolismu ze všech organismů[29].

Azotobacters, je zajímavý tím, že obsahuje více DNA, než většina ostatních bakterií, ale jejich velikost genomu je typická pro většinu prokaryot. Důvod pro tento nadprůměrný objem DNA není znám, ale je to možná proto, že buňky *Azotobacter* jsou větší než u jiných bakterií. DNA z *Azotobacter spp.* zobrazuje mnoho podobností, pokud jde o gen typu a uznání skutečnosti, na DNA z *Escherichia coli*. Genetické informace je možné přenášet mezi *azotobacters* nebo na jiné bakterie prostřednictvím konjugace nebo transformace[29].

4.1.4. Rod *Nitrosomonas*

Nitrosomonas je rod, který zahrnuje tyčinkovité chemoautotrofní bakterie, je fotofóbní co znamená, že se pokryje slizem nebo jinou formou shluku s jinými mikroby, jenom aby se na ně nedostalo světlo. Většina druhů je pohyblivá s bičíky, nachází se v polárních oblastech. Bakterie má generované membrány, které tvoří dlouhé, tenké trubičky uvnitř buňky.



Obrázek č.9: *Nitrosomonas* [9]

Tyto vzácné bakterie oxidují amoniak na dusitany jako metabolický proces. Jsou důležité pro koloběh dusíku k zvýšení dostupnosti z dusíku rostlin, zatímco limituje oxid uhličitý fixací. Využívají se elektrony z oxidace čpavku k výrobě energie a získání uhlíku. Fixovaný uhlík je převáděn z plynné formy do uhlíku vázaného v organických molekulách. Na rozdíl od rostlin, které stanoví uhlík do cukru prostřednictvím energie získané v průběhu procesu fotosyntézy. *Nitrosomonas* musí spotřebovat velké množství amoniaku, než může nastat buněčné dělení. Proces buněčného dělení může trvat, až několik dní. Rody se vyskytují v půdě, kanalizaci a zejména v znečištěných oblastech s vysokým obsahem dusíkatých látek, které preferují optimální pH od 6.0 do 9.0 a teplotní rozsah je v rozmezí 20 až 30 °C. Využití je převážně při čištění průmyslových odpadních vod a odpadů a v procesu bioremediace. Zástupci jsou například *Nitrosomonas europaea* byla

identifikována jako bakterie a je schopna degradovat různé halogenové sloučeniny, včetně trichloretylen, benzen a vinylchloridu [30].

4.1.5. Rod *Nitrobacter*

Nitrobacter je rod převážně tyčinkovitý, gramnegativní a chemoautotrofní bakterie. *Nitrobacter* hraje důležitou roli v koloběhu dusíku v oxidaci dusitanů na dusičnany v půdě. Na rozdíl od zařízení, kde přenosu elektronů v fotosyntéze poskytuje energii pro fixaci uhlíku, *Nitrobacter* využívání energie z oxidace dusitanů iontů, NO_2^- do dusičnanů iontů, NO_3^- na splnění svých požadavků uhlíku. *Nitrobacter* mají optimální pH mezi 7,3 – 7,5 a zemřou při teplotách nad 49 ° C nebo nižší než 0 ° C.

Nitrobacter může být buď ve tvaru tyčí, hruškovitý nebo pleomorfní. Buňky obvykle rozmnožují se pučením (Holt, 1993). Carboxysomes je podpora fixace uhlíku a nacházejí se v lithoautotrophically a mixotrophically pěstovaných buňkách. Další energetické zachování inkluze jsou PHB granule a polyfosfáty. Když oba dusitany a organické látky, jsou přítomny, mohou buňky vystavovat bifázický růst, první dusitan je použit a po lag fázi, se oxiduje organické hmoty. Chemoorganotrofní růst je pomalý a nevyvážený tím více poly- β -hydroxybutyrát granule, které jdou vidět, že narušují tvar a velikost buněk [31].

Mezi rod *Nitrobacter* řadíme tyto druhy *Nitrobacter winogradskyi*, *Nitrobacter hamburgensis*, *Nitrobacter vulgaris* a *Nitrobacter alkalicus*.

4.1.6. Rod *Pseudomonas*

Všechny druhy a kmeny *Pseudomonas* jsou Gram-negativní tyčky, a byly v minulosti klasifikovány jako přísně aerobní bakterie .



Obrázek č.10: Pseudomons [10]

Výjimky z této klasifikace byla nedávno objevena v *Pseudomonas* biofilmů. Značný počet, může produkovat exopolysacharidy, které jsou známé jako biofilmy. Sekrece exopolysaccharidů pseudomonády ztěžuje výskyt fagocytózy u bílých krvinek savců. Exopolysacharidy a jejich produkce přispívá také k povrchu kolonizovat biofilmů, které se obtížně odstraňují z povrchů potravin. Růst *pseudomonády* nakažené potraviny může generovat "ovocný" zápach[32].

Pseudomonas mají schopnost metabolizovat paletu různých živin. V kombinaci se schopností tvořit biofilm, jsou tedy schopné přežít v různých nečekaných místech. Například, byly nalezeny v oblastech, kde jsou připraveny léčiva. Jednoduchý zdroj uhlíku, jako je mýdlo rezidium nebo čepice liniových-lepidel a je vhodné místo pro *pseudomonády* prospívat. Jiná pravděpodobná místa, kde byla nalezena antiseptika jako kvartérní amonné sloučeniny[32].

Pseudomonas je rod gama *Proteobacteria*, která patří do velké rodiny pseudomonády. V poslední době, 16S rRNA sekvenční analýza má předefinovala taxonomie mnoha bakteriálních druhů. Důsledek rodu *Pseudomonas* zahrnuje kmeny dříve zařazené do rodů *Chryseomonas* a *Flavimonas*. Dalšími kmeny dříve zařazené do rodu *Pseudomonas* jsou nyní zařazené do rodu *Burkholderia* a *Ralstonia*. *Pseudomonas* doslovně znamená „nesprávná

jednotka“. Vzhledem k jejich rozšíření výskytu ve vodě a semena rostlin, jako je dicots, pseudomonády byly pozorovány již v historii mikrobiologie . Rodové jméno *Pseudomonas* bylo vytvořeno pro tyto organismy v roce 1894 jako rod gram-negativní, tyčinkovité bakterie[33].

Pseudomonas aeruginosa

Je stále více chápán jako vznikající oportunní patogen klinický význam. Několik různých epidemiologických studií naznačují, že rezistence vůči antibiotikům roste v klinických izolantech. (obr. č.11).



Obrázek č.11: Pseudomonas Aeruginosa [11]

Rod ukazuje velké množství metabolických rozmanitostí, a tudíž jsou schopny kolonizovat široké spektrum výklenků. Jejich jednoduchost kultury in vitro a dostupnost stále většího počtu kmene *Pseudomonas*. Druhy *P. aeruginosa* v jeho roli je oportunní lidský patogen, rostlinný patogen je *P. syringae* , půdní bakterie *P. putida* , a růst rostlin *P. fluorescens*. Jsou to Gram-negativní bakterie, většina *Pseudomonas spp.* jsou přirozeně odolné vůči penicilinu a většina souvisejících beta-laktamová antibiotika[32]. Tato schopnost se prosadit v drsných podmínkách, je výsledkem jejich složité buněčné stěny , která obsahuje póry. *Pseudomonas aeruginosa* je vysoce relevantní oportunní patogen. Jedním z nejvíce znepokojujících vlastností *P. aeruginosa* je jeho nízká antibiotická citlivost. Tato nízká citlivost lze přičíst k jednání ve vzájemné shodě mnohočetných venkovních čerpadel s chromozomálně-kódované rezistenci vůči antibiotickým genům (např. mexAB-OprM , MexXYatd.) s nízkou propustností bakteriální buněčné obálky[34]. Kromě vnitřního odporu, *P. aeruginosa* snadno vyvíjí získaná rezistence buď mutací v chromozomálně-

kódované geny, nebo horizontální přenos genů antibiotické rezistence faktorů. Vývoj rezistence od *P. aeruginosa* izolovaných vyžaduje několik různých genetických událostí, které zahrnují pořízení z různých mutací nebo horizontální přenos genů pro rezistenci antibiotik. Hypermutace podporuje výběr mutace-řízený antibiotické rezistence v *P. aeruginosa* kmenů produkujících chronickou infekci, zatímco seskupení několika různých genů rezistentních vůči antibiotikům v integretech upřednostňují vzájemné získání odolnosti vůči antibiotickým faktorů. Některé nedávné studie ukázaly, že fenotypové rezistence spojené s biofilmu formací, nebo ke vzniku malých kolonií varianty mohou být důležité na odpověď *P. aeruginosa* populace k antibiotické léčbě[33]. Infekční druhy patří *P. aeruginosa*, *P. oryzae*, a *P. plecoglossicida*. *P. aeruginosa* daří v nemocnici prostředí, a problematické jsou zejména v tomto prostředí, protože je druhou nejčastější infekcí u hospitalizovaných pacientů (nozokomiální infekce). To patogeneze může být zčásti způsobena bílkovinou vylučovanou *P. aeruginosa*. Bakterie má širokou škálu sekrece složek a vývozu četné proteiny substráty považovány za významné v patogenezi klinických kmenů. Endokarditida[35]. *Pseudomonas aeruginosa* infikuje srdeční chlopně uživatelů drog a protetické srdeční chlopně. Organismus vytváří sám na endokardu přímou invazi z krevního oběhu, respiračních infekcí. Respirační infekce způsobené *Pseudomonas aeruginosa* se vyskytují téměř výlučně u jedinců s ohrožením dolních cest dýchacích nebo ohrožením systémové obranný mechanismus. Primární zápal plic se vyskytuje u pacientů s chronickým plicním onemocněním a chronickým srdečním selháním. U dolních cest dýchacích kolonizaci pacientů s cystickou fibrózou v mukoidní kmenů *Pseudomonas aeruginosa* je časté a obtížné, ne-li nemožné, že k vyhubení. Centrální nervový systém infekce. *Pseudomonas aeruginosa* způsobuje meningitidu a mozek abscesy. Organismu napadá CNS od sousedící struktury jako vnitřní ucho nebo vedlejších nosních dutin, nebo se naočkuje přímo pomocí hlavy trauma, chirurgie nebo invazivních diagnostických postupů, nebo se šíří ze vzdálené sítě infekce, jako je infekce močových cest. *Pseudomonas aeruginosa* je převládající bakteriální patogen v některých případech vnějších otitis, včetně "plavec do ucha". Bakterie je občas nalezený v normálním uchu, ale často obývá zevního zvukovodu v souvislosti s úrazem, macerace, zánět, nebo prostě jen mokré a vlhké podmínky. Očních infekcí *Pseudomonas aeruginosa* může způsobit devastující infekce v lidském oku. Je to jedna z nejčastějších příčin bakteriální keratitida, a byl izolován jako etiologického agens novorozeneckého oftalmie[36]. *Pseudomonas* mohou kolonizovat na očním epitelu prostřednictvím fimbrií.

Připevnění ke kyselině sialové pomocí receptorů. Pokud obranu životního prostředí, jsou ohrožena v žádném případě, bakterie mohou rozmnožovat rychle přes produkci enzymů, jako jsou elastázy, alkalické proteázy a exotoxin, a způsobit rychle destruktivní infekcí, které mohou vést ke ztrátě celého oka. Kostí a společné infekce *Pseudomonas* infekce kostí a kloubů v důsledku přímých očkovaní bakterií nebo hematogenní šíření bakterií z jiných primárních míst infekce. Krev nese infekci, kterou lze nejčastěji vidět u uživatelů drog a ve spojení s močovými cestami nebo pánevní infekce *Pseudomonas aeruginosa* má zvláštní tropismu pro fibrocartilagenous kloubů osového skeletu. *Pseudomonas aeruginosa* způsobuje chronické osteomyelitidy souvislou, obvykle v důsledku přímého očkovaní kosti a je nejčastější patogen zapleten do osteochondritis po propíchnutí ran na chodidla. Kůže a měkkých tkání, včetně infekce ran, pyodermie a dermatitida *Pseudomonas aeruginosa* může způsobit různé kožní infekce, a to jak lokální a rozptýlené. Rezistence na antibiotika je známý pro svou odolnost vůči antibiotikům a je proto zvláště nebezpečný a obávaný patogenu *Pseudomonas aeruginosa*. Bakterie je přirozeně odolná proti množství antibiotik v důsledku permeability bariéry, které nabízí své Gramnegativní vnější membránou. Také její sklon kolonizovat povrchy ve formě bio filmu činí buňky nepropustný pro terapeutické koncentrace antibiotik. Od jeho přirozeného prostředí, je půda, žijící ve spolupráci s bacily, aktinomycety a plísní, které vyvinul odolnost proti mnoha jejich přirozeně-vyskytující antibiotika. Jen málo antibiotik je účinných proti *Pseudomonas aeruginosa*, včetně fluorochinolonů, gentamicin a imipenem, a dokonce i tato antibiotika nejsou účinná proti všem kmenům. Diagnóza *P.aeruginosa* infekce závisí na izolaci a laboratorní identifikace bakterie. Roste dobře na většině laboratorních médiích a běžně je izolován na krevní agar nebo Eosin-methylthioninovém modrém agaru. Je určena na základě jeho morfologie Gram, neschopnost zkvašovat laktózu, pozitivní oxidáza reakce, její ovocná vůně, a jeho schopnost růst při 42 ° C. *Fluorescence* pod ultrafialovým světlem, je užitečné při včasném rozpoznání *Ps. aeruginosa* kolonií[36]. Patogeneze pro oportunistický patogen, jako je *Pseudomonas aeruginosa*, chorobný proces začne s nějakou změnu nebo obcházení normálního obranyschopnost. Patogenezi *Pseudomonas* s infekcí je multifaktoriální, jak to navrhoval počet a širokou škálou faktorů virulence posedlé bakterie. Více a různorodé faktory virulence jsou očekávány v široké škále způsobů onemocnění, mezi které patří septikémie, infekce močových cest, zápal plic, chronické plicní infekce, endokarditida, dermatitida[37].

4.2. Rody anaerobních bakterií

4.2.1. Rod *Clostridium*

Clostridium je rod bakterií volně žijících hlavně v mírně kyselých půdách. Je to anaerobní, sporulující, mezofilní, G+ tyčinkovitá bakterie o rozměrech 1 x 5–8 µm. Fixuje vzdušný dusík a energii získává másečným kvašením.



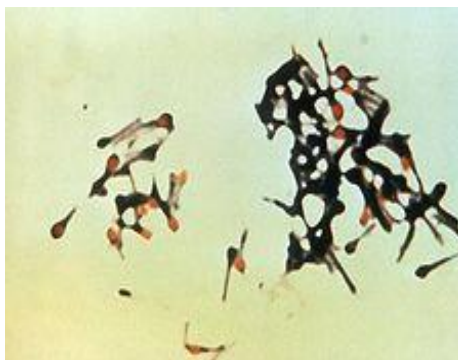
Obrázek č.12: *Clostridium* [12]

Využívá se při průmyslové produkci kyseliny másečné, na druhou stranu produkuje toxiny. *Clostridium* se též minoritně vyskytuje jako epifytní mikroflóra na rostlinách, kde produkuje kyselinu másečnou. Při kontrole čistoty pitné vody je výskyt bakterií v této vodě mezní hodnotou. *Clostridium* se též vyskytuje jako amylolytická bakterie v batoru. Dále se tvořící spory a redukující sulfity, s taxonomickou příslušností do čeledi *Bacillaceae* do rodu *Clostridium*. V našich vodách je nejvíce zastoupen druh *Clostridium perfringens* (dříve *Clostridium welchii*). Spory se vyskytují v intestinálním traktu, exkrementech či odpadní vodě, ale nejsou tak hojné jako např. koliformní bakterie. Jelikož mají vysokou rezistenci vůči chloru a jiným chemickým či fyzikálním faktorům, je

vhodné využít je pro doplňkovou kontrolu vodárenského systému, rozvodů a pro kontrolu účinnosti dezinfekce vody. Stávající legislativou je ustanoven požadavek na stanovení ukazatele fekálního znečištění dlouhodobějšího data, a tím je *Clostridium perfringens*. Stanovení druhu *Clostridium perfringens* včetně spor se řídí zcela jiným postupem, který je uveden v příloze č. 4 ve Vyhlášce MZd. ČR č. 252/2004 Sb. Postup je založen na membránové filtraci, po které následuje anaerobní kultivace na m-CP agaru při teplotě $44\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu $21\text{ hod} \pm 3\text{ hod}$. Počítá se četnost neprůsvitných žlutých kolonií, jejichž zbarvení přejde do růžova nebo červena po vystavení parám amoniaku po dobu 20 - 30 sekund [37].

Clostridium botulinum

Je grampozitivní tyčinkovitá bakterie, která produkuje neurotoxinbotulotoxin, způsobující ochrnutí svalů označované jako botulismus. Tento toxin je také hlavní složkou v botoxových injekcích používaných k odstraňování vrásek. *C. botulinum* je sportující anaerobní, tvořící oválné subterminální endospory. Běžně se vyskytuje v půdě. *C. botulinum* je tyčinkovitý mikroorganismus (viz. obr. č.13).



Obrázek č.13: *Clostridium botulinum* [13]

Je obligatorně anaerobní, kyslík je pro něj jedem. Toleruje však velmi malé stopy kyslíku, a to díky enzymu superoxiddismutáze (SOD), který je důležitou antioxidační ochranou téměř pro všechny buňky vystavené kyslíku. Za nepříznivých podmínek bakterie dokáže tvořit endospory, které jí umožňují přežívat v neaktivním stavu, dokud nenastanou takové podmínky, ve kterých může růst.

V laboratoři se mikroorganismus obvykle izoluje v TSC agaru (tryptóza, siřičitan, cykloserin), vždy v anaerobním prostředí s méně než 2 % kyslíku. To lze zajistit různými komerčně vyráběnými sadami, které používají chemické reakce nahrazující kyslík oxidem uhličitým. *Clostridium botulinum* je lipáza negativní mikroorganismus, roste v prostředí s pH mezi 4,8 a 7,0. Nemůže používat laktózu jako primární zdroj uhlíku, což je charakteristika důležitá při biochemické identifikaci [38].

Z historie bakterie *C. botulinum* byla poprvé rozpoznána a izolována Emilem van Ermengem v roce 1896 z domácí šunky, která způsobila botulismus. Izolát byl původně nazván *Bacillus botulinus*. Izoláty z pozdějších výskytů nemoci však byly vždy identifikovány jako anaerobní sporulující organismy, proto Bengston navrhl, aby byly zařazeny do rodu *Clostridium*, neboť rod *Bacillus* byl omezen na aerobní sporulující tyčinky. Od roku 1953 se celý druh produkující neurotoxiny (typy A-G) označují jako *C. botulinum*. Existují zásadní fenotypické a genotypické důkazy, které ukazují heterogenitu uvnitř druhu. To vedlo k reklasifikaci *C. botulinum* produkující toxin G do nového druhu *Clostridium argentinense*. Kmeny *C. botulinum*, které neprodukují botulotoxin, se označují *Clostridium sporogenes*. Sanger Institut zmapoval kompletní genom *C. botulinum*. Aktuální nomenklatura pro *C. botulinum* rozeznává čtyři fyziologické skupiny (I-IV). Toto dělení je založeno především na schopnosti organismu trávit složité bílkoviny. Studie na úrovni DNA a rRNA takového dělení druhu podporují. Většina lidských onemocnění botulismem je způsobena skupinou I (proteolytickou) nebo II (neproteolytickou). Skupina III způsobuje onemocnění hlavně u zvířat. Není žádný záznam o tom, že by nějaké onemocnění člověka nebo zvířete způsobila bakterie *C. botulinum* ze skupiny IV [38].

Toxiny *C. botulinum*

Produkce neurotoxinu je sjednocující vlastností druhu *C. botulinum*. Bylo identifikováno sedm typů toxinu, označují se písmeny A až G. Většina kmenů produkuje jeden typ neurotoxinu, ale byly popsány i kmeny produkující více toxinů. U případů lidského botulismu v Novém Mexiku a Kalifornii byly izolovány bakterie *C. botulinum* produkující toxiny typu B a F. Typ toxinu byl označen jako Bf, protože toxin B převažoval nad typem F. Podobně byly hlášeny také bakterie produkující toxiny Ab nebo Af. Organismy geneticky identifikované jako jiné druhy rodu *Clostridium* také způsobují lidský botulismus. *Clostridium*

butyricum produkuje toxin typu E a *Clostridium baratii* toxin typu F. Jsou obavy z možnosti přenosu neurotoxických genů z *C. botulinum* na jiná Clostridia, zvláště v potravinářství, kde jsou konzervační systémy navrhovány tak, že ničí nebo inhibují jen *C. botulinum*, ale nikoli jiné druhy z rodu *Clostridium*. (viz tab. č.1)

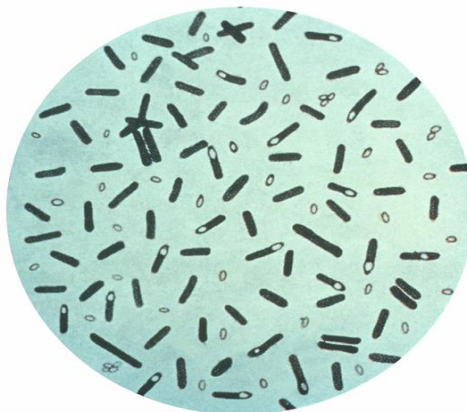
Tabulka č.1 Fenotypické skupiny *Clostridium botulinum* [1]

Fenotypické skupiny <i>Clostridium botulinum</i>				
Vlastnosti	Skupina I	Skupina II	Skupina III	Skupina IV
Typy toxinu	A, B, F	B, E, F	C, D	G
Proteolýza	+	-	Slabá	-
Sacharolýza	-	+	-	-
Hostitel nemoci	Člověk	Člověk	Zvíře	-
Toxinový gen	Chromozóm	Chromozóm	Bakteriofág	Plazmid
Blízcí příbuzní	<i>C. sporogenes</i> , <i>C. putrificum</i>	<i>C. butyricum</i> , <i>C. beijerinickii</i>	<i>C. haemolyticum</i> , <i>C. novyi</i> typ A	<i>C. subterminale</i> , <i>C. haemolyticum</i>

Clostridium tetani

Je grampozitivní tyčinkovitá bakterie rodu *Clostridium*. Při Gramově barvení připomíná tenisovou raketu nebo paličku k bubnu. *C. tetani* se nachází v podobě spor v půdě nebo jako parazit v trávicí soustavě zvířat. *C. tetani* produkuje silný biologický toxin tetanospasmin a je původce onemocnění tetanem.

Clostridium tetani je tyčinkovitý obligatorní anaerobní, který se v čerstvých kulturách chová grampozitivně; vyvinuté kultury se mohou chovat gramnegativně (viz. obr. č. 12).



Obrázek č.14: Clostridium tetani [14]

Během vegetativního růstu nemůže bakterie přežít v přítomnosti kyslíku, je citlivá na teplo a má bičíky, které jí umožňují omezený pohyb. Jakmile bakterie dozraje, vytvoří konečnou sporu, která dává mikroorganismu jeho charakteristický vzhled. Spory *C. tetani* jsou extrémně tvrdé, jsou odolné teplu a většině antiseptik. Spory jsou velmi rozšířené ve hnojené půdě, lze je nalézt i na lidské kůži a v kontaminovaném heroinu[39].

Toxicita Clostridium tetani

Se obvykle projevuje tím, že vstoupí do hostitele přes poraněnou kůži a začne se množit. Jakmile se rozvine infekce, *C. tetani* produkuje dva exotoxiny, tetanolysin a tetanospasmin. Bylo identifikováno jedenáct druhů *C. tetani*, primárně se lišících bičíkovými antigeny a schopností produkovat tetanospasmin. Geny, které produkují toxin, jsou uloženy v plazmidu přítomném ve všech toxigenních druzích, a všechny druhy, které jsou schopni tvořit toxin, produkují stejné toxiny[40]. Tetanolysin nemá pro *C. tetani* žádnou známou funkci - důvod, proč ho bakterie produkují, není s jistotou znám. Tetanospasmin je neurotoxin a způsobuje klinické projevy tetanu. Tetanický toxin je produkován žijícími bakteriemi a uvolňuje se, když se bakterie rozpadají, například při sporulaci nebo při vegetativním růstu. K produkci toxinu je třeba minimálního množství sporulace nebo vegetativního buněčného růstu. Počítáno na jednotku váhy je tetanospasmin jedním z

nejsilnějších známých jedů. Odhadovaná minimální smrtelná dávka pro člověka je 2,5 ng na kilogram živé váhy, resp. 175 ng pro člověka vážícího 70 kg. Jedinými silnějšími jedy jsou botulotoxin, produkováný blízce příbuznou bakterií *Clostridium botulinum* a difterický toxin produkováný bakterií *Corynebacterium diphtheriae*, která způsobuje záškrť. Tetanospasmin je metaloproteináza závislá na zinku, strukturálně podobná botulotoxinu, ovšem každý z těchto toxinů má poněkud odlišné účinky. *C. tetani* syntetizuje tetanospasmin jako polypeptidový meziprodukt s atomovou hmotností 150kDa, který je následně štěpen proteázou do dvou fragmentů: fragmentu A ("lehký řetězec" s 50 kDa) a fragment B (těžký řetězec se 100 kDa), které zůstávají spojeny disulfidovým můstkem. Štěpení meziproduktu na fragmenty A a B lze též vyvolat uměle pomocí trypsinu [40].

5. Využití

Využití rodů půdních bakterií je v dnešní době velmi vyhledávané, ale řada jich je pouze ve fázi vědecké.

5.1. Eliminace uranu

Některé půdní bakterie dokážou uvolňovat fosforečnan, který s uranem vytváří nerozpustnou a na substrát fixovanou formu. Takto zabudovaný uran se stává pro další organismy těžko využitelný a pro životní prostředí tak do značné míry přestává být hrozbou. Teoreticky mělo trvat stovky let, než bude oblast pro živočichy bezpečná. Nejen vědce nyní šokuje zjištění, jak dobře si v „zakázaných oblastech“ ekosystémy vedou. Navzdory všem předpokladům s radioaktivitou silně zamořených oblastech, rostliny vzkvétají a zvířatům se daří. Výzkumníci, zabývající se prostředím v okolí poškozené jaderné elektrárny v Černobylu. Tvrdí, že nyní je biodiverzita větší, než jaká byla před katastrofou. Vědci zjistili, že některé z přirozeně se vyskytujících mikroorganismů uvolňují do prostředí fosfát a že v prostředí ve kterém se vyskytuje uran pak tento fosfát již klasickým chemickým procesem sám přemění na fosfát uranu. Novou techniku vyvázání uranu z prostředí již její autoři také pojmenovali. Nazvali ji „bio mineralizace uranu“.

Proces začíná, když bakterie druhu *Bacillus*, *Rhanelia* a zřejmě také *Arthrobacter*, rozkládají sloučeniny s organickými fosfáty jako je například glycerol-3-fosfát nebo kyselina fytová, kteréžto sloučeniny se vyskytují v půdě. Kde se tyto látky v půdě berou? Nejsou ničím mimořádným - kyselina fytová je například produktem rozkladných procesů při tlení listů. Z pokusů zaměřených na to, jak moc uranu jsou bakterie schopny zlikvidovat (mineralizovat) vyplynul ještě jeden z poznatků. Uran je pro bakterie poměrně toxický prvek. Když je ale bakterie „krmena“ glukózo-3-fosfátem, tak se vůči jeho toxicitě stává do značné míry odolnou. Tady nemáme na mysli radiaci, nýbrž to, že tento prvek působí na mikroorganismy i svým chemickým působením – chová se jako jed. Bakterie, dostatečně živěné zmíněným glukózo-3-fosfátem, si uran ve svém nejbližším okolí brzo vysrážely, jeho toxický účinek poklesl a bakterie vesele rostly a množily se dál. I když, je tento výzkum pouze v začátcích, můžeme se domnívat, že zmíněné bakterie brzo i trochu geneticky upraví, aby byly ještě lépe vybaveny

pro úlohu počišťovačů a aby nám byly nápomocny všude tam, kde jsme si již naši Zemi zaneřádili, nebo kde se tak teprve stane [41].

5.2. Využití arzenu

Dalším je využitím bych zmínil bakterie v půdě kontaminovaným arzenem. Jak už víme Arzen (As) je přítomen ve vysokých koncentracích v půdách v důsledku přírodních a antropogenních procesů. Vytváří vážné otázky životního prostředí po celém světě. Arzen (III) a arzen (V) jsou dvě anorganické formy hlavně přítomných v půdě. Nicméně, vzhledem k pomalé redoxní přeměny, a to jak As(V) a As (III) se nacházejí v jednom prostředí. As (III) je méně si ponechá půdní koloidy, zatímco As (V) je přednostně adsorbuje na kladně nabitě povrchy, jako je (hydro) oxidy Fe, Mn, a Al. Adsorpční afinita je větší při nízkých pH. Nicméně, mikroorganismy také hrají významnou roli při specializaci a geochemickém chování. Mikrobiální oxidace As (III) se provádí heterotrofní a chemoautotrofní bakterie. Získané výsledky jsou v oblasti životního prostředí význam vzhledem k možnosti, že bakteriální aktivita půdy by mohla iniciovat snížení As (V) obsažené v pyritovém popelu na As (III), což způsobuje uvolnění a transport arzenu na okolní vodní plochy a podzemních vod. Vzhledem k tomu, jako mobilizační nevyžaduje zrušení hydroxidy železa, je možné, že takový proces by mohlo dojít i ve znečištěné půdy obsahující různé As-s fází, například Al-oxid a fylosilikátů.

5.3. Kompostování

Poslední metodou je technologie kompostování je poměrně jednoduše realizovatelná. Jedná se o řízený proces, při kterém dochází k rozkladu organických materiálů pomocí mikroorganismů za přístupu vzduchu (aerobní proces). Během kompostování dochází k postupnému vzniku organického hnojiva složeného z humusu a minerálních látek[42]. K bezpečnému a přirozenému organickému hnojivu, které značně podpoří zvýšení úrodnosti půdy a také dojde k úbytku produkce organických hnojiv. Kompostováním se zmenší obsah původního materiálu až o 50 %. Jednoduše řečeno se jedná o transformaci energie, která je ukládána zpět do půdy, aby byla systému dodána energie pro růst rostlin. Tím jsou vytvořeny optimální podmínky pro jejich důležitou roli, tedy produkci kyslíku. Dochází tak k přirozené recyklaci organických látek

a biologický materiál se tak vrací opět na začátek biologického řetězce. Kompost zcela nahrazuje uměle vytvořená hnojiva, která při své výrobě zatěžují životní prostředí a navíc obsahují podstatně méně organických látek než kompost, který se vytvoří přírodní cestou. Kompost je také velmi užitečný při rekultivacích půd a jejich zúrodnování. Toto organické hnojivo dodává půdě uhlík, důležitý pro půdní mikroorganismy a všechny ostatní živiny také pro rostliny, proto se označuje jako univerzální hnojivo[43].

6. Závěr

Cílem bakalářské práce bylo popsat půdní bakterie, jejich rozdělení a způsob života v prokaryontních organismech.

Půdní bakterie jsou rozděleny podle potřeby kyslíku na dvě skupiny, kterými jsou aerobní a anaerobní bakterie. Mezi nejzajímavější rody patří rody *Pseudomonas*, *Clostridium*. Tyto rody jsou popsány v této bakalářské práci s jejich vlastnostmi a zajímavostmi ze života.

Závěr této práce je věnován využití půdních bakterií v praxi. Z nejnovějších výzkumů vyplynulo, že půdní bakterie se mohou využít při eliminaci fosfátu z půdy a to za pomoci rodu *Arthobacter* a to v takovém rozsahu, že půda je téměř jako v původním stavu. Dalším ze zjištění byla, eliminace arzenu z půdy, které je zatím pouze na bázi výzkumu. A poslední zmínkou v této bakalářské práci je už dlouhodobé využívání kompostování díky půdním bakteriím, které je nesmírně důležité pro životní prostředí a to z důvodu, kterým je hnojivo neobsahující tolik dusíkatých látek. Tyto hnojiva jsou používány v zemědělském průmyslu.

Seznam použité literatury

1. MŽP, *Definice, složení a význam půdy* [online]. 2009 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <[http://www.env.cz/AIS/web-pub.nsf/\\$spid/MZPKHFDQGJEB](http://www.env.cz/AIS/web-pub.nsf/$spid/MZPKHFDQGJEB)>.
2. PRAXA, A; JANDÁK, J; POKORNÝ, E. *Půdoznalství I*. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1995. 153 s. ISBN 80-7157-145-8.
3. Ministerstva zemědělství. Vyhláška 4. 275 ze dne 12. Listopadu 1998 o agrochemickém zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků. In *Sbírka zákonů*. Česká republika. 1998, částka 97.
4. LEDEREROVÁ, Jaroslava, et al. *Biokorozní vlivy na stavební díla : silikátový svaz 2009*. Praha : GRAFOTECHNA print s.r.o., 2009. 275 s. ISBN 978-80-86821-50-4.
5. TOMÁŠEK, M. *Půdy České republiky*. Praha : Česká geologická služba, 2007. 68 s. ISBN 978-80-7075-688-1.
6. MŽP, *Vlastnosti půd* [online]. 2007 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <[http://www.mzp.cz/AIS/web-pub.nsf/\\$pid/MZPKHFDQGU6Z](http://www.mzp.cz/AIS/web-pub.nsf/$pid/MZPKHFDQGU6Z)>.
7. KAŠTÁNEK, František. *Bioinženýrství*, 1. vyd. Praha 2001, 334 s., ISBN 80-200-0768-7.
8. MALACHOVÁ, Kateřina. *Ekologie mikroorganismů*, 1. vyd. Ostrava 2004, 86. s., ISBN 80-7042-996-8.
9. KILHAM, Ken. *Soil ecology*, 1. vyd. Cambridge University 1994, ISBN 0-521-43521-8
10. SCHLOSS, P.; HANDELSMAN, J. *Microbiol Mol Biol Rev* [online]. prosinec 2004 [cit. 2010-04-10]. Status of the Microbial Census. Dostupné z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC539005/?tool=pubmed#r6>>.
11. WHITMAN, William B.; COLEMAN, David C.; WIEBE, William J. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 9.června 1998 [cit. 2010-04-10]. Prokaryotes: The unseen majority. Dostupné z WWW: <<http://www.pnas.org/content/95/12/6578.full>>.
12. KLOTZ, Irene Mona *ABC Science* [online]. 22.listopadu 2005 [cit. 2010-04-10]. Lichen love space. Dostupné z WWW: <<http://www.abc.net.au/science/articles/2005/11/22/1514148.htm>>.

-
- 13.FEČKO, Peter, et al. *Enviromentální biotechnologie*. Ostrava : Ediční středisko VŠB-TU Ostrava, 2004. 180 s.
- 14.MORAN, Laurence A. *Sandwalk* [online]. 3.března 2008 [cit. 2010-04-10]. Multicellular bacteria. Dostupné z WWW: <<http://sandwalk.blogspot.com/2008/03/multicellular-bacteria.html>>.
- 15.LOSICK, R; BASSLER, BL. *National Center for Biotechnology Information* [online]. 21.dubna 2006 [cit. 2010-04-10]. Bacterially speaking. Dostupné z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16630813>>.
- 16.KAPRÁLEK, František . *Fyziologie bakterií*. Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 603 s
- 17.KAPRÁLEK, František . *Základy bakteriologie*. Praha : Karolinum, 2000. 241 s. ISBN 80-7184-811-5.
- 18.ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha : Victoria Publishing, 1995. 362 s. ISBN 80-85605-71-6.
- 19.Wikipedia [online]. 2008 [cit. 2010-04-10]. Bakterie. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Bakterie>>.
- 20.NEALSON, K. Post-Viking microbiology: new approaches, new data, new insights. *Orig Life Evol Biosph*. 1999, 29, 1, s. 73-93
- 21.Zillig W. Comparative biochemistry of Archaea and Bacteria. *Curr Opin Genet Dev*, 1991, 1, 4, s. 544-51
- 22.Hellingwerf K, Crielgaard W, Hoff W, Matthijs H, Mur L, van Rotterdam B. Photobiology of bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1994, 65, 4, s. 331–47
- 23.UCMP, *Bakterie : životní historie a ekologie*. [online]. 1996 [cit. 2010-04-10]. Dostupné z WWW: <<http://www.ucmp.berkeley.edu/bacteria/bacterialh.html>>.
- 24.BIOL/CSES 4164, *ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* [online]. 2008 [cit. 2010-04-14]. RHIZOBIUM. Dostupné z WWW: <http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Microbes/rhizobium.html>.
- 25.Wikipedia, *RHIZOBIUM*. [online]. 2004 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Rhizobium>>.

26. Microbiologybytes, *Arthrobacter* [online]. 2007 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <<http://www.microbiologybytes.com/video/Arthrobacter.html>>.
27. National Center for Biotechnology Information, *Tajemství půdy přežití odhalila sekvenci genomu Arthrobacter aureescens TCI* [online]. prosinec 2006 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17194220>>.
28. Indiaagronet, *Azotobacter* [online]. prosinec 2009 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <http://www.indiaagronet.com/indiaagronet/manuers_fertilizers/azotobacter.htm>.
29. MicrobeWiki, *Azotobacter*. [online]. 2006 [cit. 2010-04-14]. Dostupné z WWW: <<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Azotobacter>>.
30. MicrobeWiki, *Nitrosomonas* [online]. 2006 [cit. 2010-04-12]. Dostupné z WWW: <<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Nitrosomonas>>.
31. Fritz Industries. *Bioconlabs* [online]. 2006 [cit. 2010-04-12]. Nitrifying Bacteria Facts. Dostupné z WWW: <<http://www.bioconlabs.com/nitribactfacts.html>>.
32. Wikipedia, *Pseudomonas* [online]. 2008 [cit. 2010-04-12]. Dostupné z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas>>.
33. *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology* [online]. Belgium: Caister Academic Press, January 2008 [cit. 2010-04-13]. Dostupné z WWW: <<http://www.horizonpress.com/pseudo>>.
34. National Center for Biotechnology Information, *Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria*. [online]. leden 2004 [cit. 2010-04-12]. Dostupné z WWW: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14706082?ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum>.
35. *Bacterial Secreted Proteins: Secretory Mechanisms and Role in Pathogenesis* [online]. UK: Academic Press Caister, 2009 [cit. 2010-04-13]. Dostupné z WWW: <<http://www.horizonpress.com/bacterial-secreted-proteins>>. ISBN 978-1-904455-42-4.
36. TODAR, Kenneth. *Todar's online textbook of bacteriology* [online]. 2008 [cit. 2010-04-12]. *Pseudomonas*. Dostupné z WWW: <<http://www.textbookofbacteriology.net/pseudomonas>>.

-
- 37.ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Encyklopedie hydrobiologie : výkladový slovník* [online]. Praha : VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2010-04-12]. Klostridia, klostridium, Clostridium. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=K004>.
- 38.Wikipedia, *Clostridium botulinum* [online]. 2009 [cit. 2010-04-12]. Dostupné z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Clostridium_botulinum>.
- 39.HAMBORSKY J, Atkinson W; MCINTYRE, L; WOLFE, S. *Tetanus* [online].Public Health Foundation, 2007 [cit. 2010-04-12]. Tetanus. Dostupné z WWW: <<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/tetanus.pdf>>
- 40.Wikipedia, *Clostridium tetani* [online]. 2007 [cit. 2010-04-12]. Dostupné z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Clostridium_tetani>.
- 41.PAZDERA, Josef . *Osel* [online]. 2006 [cit. 2010-04-14]. Bakterie mohou „čistit“ půdu zamořenou radioaktivitou. Dostupné z WWW: <<http://www.osel.cz/index.php?clanek=1833>>.
- 42.SOTÁKOVÁ, S. *Organická hmota a úrodnost' pody*, 1. vyd. Bratislava 1982, 324. s.
- 43.KALINA Miroslav. *Kompostování a péče o půdu*, 1. vyd. Praha 2004, ISBN 80-247-0907-4.

Seznam obrázků

Obrázek č.1	Významné osobnosti 17. až 20. Století	2
Obrázek č.2	Půda	3
Obrázek č.3	Průřez země	5
Obrázek č.4	Tvary buněk	10
Obrázek č.5	Stavba buňky	12
Obrázek č.6	<i>Rhizobium</i>	22
Obrázek č.7	<i>Arthobacter</i>	23
Obrázek č.8	<i>Azobakter</i>	24
Obrázek č.9	<i>Nitrosomonas</i>	25
Obrázek č.10	<i>Pseudomonas</i>	27
Obrázek č.11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
Obrázek č.12	<i>Clostridium</i>	32
Obrázek č.13	<i>Clostridium botulinum</i>	33
Obrázek č.14	<i>Clostridium tetani</i>	37

Seznam tabulek

TABULKA Č.1	Fenotypické skupiny <i>Clostridium botulinum</i>	36
-------------	--	----